

# МОДИФИКАЦИЯ ЭМОЦИОНАЛЬНЫМ СТРЕССОМ МУТАГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОБИОТИКОВ У ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Ф. И. Ингель, Ю. А. Ревазова

*НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина*

**Mammalian and human emotional stress as modifier of genetic damage  
induces by xenobiotics**

*F. I. Ingel, J. A. Revazova*

*A. Sysin Research Institute for Human Ecology and Environmental Hygiene*

In introduction a short review of Emotional Stress' (ES) physiological and genetic effects have to be done. On the basis of H. Selye', M. Lobashov' and J. Kerids' conception and quoted data the hypothesis of ES' potency to modify xenobiotic-induced mutagenic effects have been formulate. For verify this hypothesis effects of ES in complex with antitumor drug Cyclophosphamide (CP) and with benzodiazepinic tranquilizer Fenazepamum (FZ) were studied in long murine experiments. Results of these experiments demonstrates that ES (in dependence of the duration) can increase or decrease mutagenic effects of CP and FZ. Moreover, all of the factors investigated as well as drugs' action in complex with ES, induced synchronic alteration of Selye' triad parameters and similar ones in dynamics and levels of bone marrow and thymus genetic damage. Adaptive answer of an organism simplest mathematical model have been constructed on the base of these data. This model proves the connection between sensitivity of genome to genotoxicants action and adaptive processes activity. As a result the hypothesis of ES level using as a general index for human adaptive answer estimation and, consequently, as prognostic criteria for human genome' sensitivity to environmental mutagens have been formulated. Results of genetic-psychological investigations of oil-refinery workers (30 persons 4- 15 persons as conditional control, Jaroslavl town) and cut glass factory (26 persons +12 persons as conditional control, Diadkovo town) and toxic-psychological investigation of 272 Muscovites (living in 4 different regions) have been demonstrated. These data permits to use the ES evaluation as a basis for previous high genetic risk group forming. In this context we conclude that the two-step scheme of genetic-psychological investigation may be correct.

Стресс есть жизнь и жизнь есть стресс.

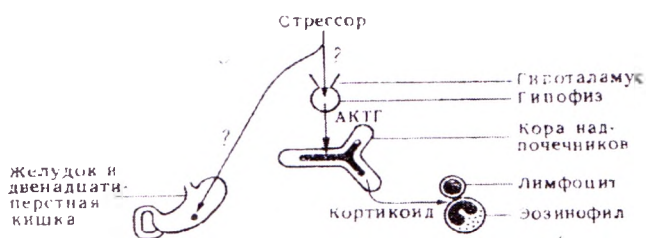
*Г. Селье*

Жизнь — динамическое равновесие  
высокого уровня, постоянно находящееся  
в состоянии активного гомеостазирования  
или стресса.

*П. К. Анохин*

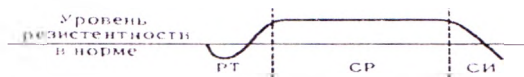
Изучая возможность существования общих причин болезней, Г. Селье в 1936 г. обнаружил, что у крыс после самых разных воздействий — охлаждения, гипертермии, рентгеновского облучения, введения формалина, адреналина, инсулина или экстрактов различных тканей, после травмы, кровопотери, сильной боли или длительной мышечной нагрузки, после резкого звука или сильного света развивалась идентичная цепь событий, которая

заключалась в изменениях, затрагивающих в первую очередь ось гипоталамус–гипофиз–надпочечники и одновременно влияющих на тимус и желудочно-кишечный тракт («триада» Селье) [21, 31]:



Селье писал: «Посредством неизвестного первичного медиатора стрессор, поражающий любой участок организма, стимулирует в гипофизе секрецию АКТГ, который, в свою очередь, побуждает кору надпочечников к выработке кортикоидных гормонов. Последние вызывают инволюцию лимфатических органов, образование язв в желудке и исчезновение из крови лимфоцитов и эозинофилов» [21; с. 83].

Так было сформулировано понятие стресса, под которым Селье понимал совокупность общих черт в реакции живых организмов на все воздействия, которые имеют тенденцию нарушать гомеодинамику (динамический гомеостаз) биохимических и физиологических процессов. Селье показал, что действие дестабилизирующих факторов вызывает в организме развитие общего адаптационного синдрома (ОАС), включающего три основные фазы — реакцию тревоги (РТ), стадию резистентности (СР) и состояние истощения (СИ):



По мнению многих врачей и психологов, концепция Селье страдала одним серьезным недостатком — отсутствием учета зависимости соматических процессов от нервно-психической деятельности [17].

Эмоция представляет собой психологическое понятие, которое ранее всего и более всего было оценено физиологами. Нейрофизиологический механизм эмоций был выявлен В. М. Бехтеревым, а биохимический аспект этого явления описан Б. Кэннон, который установил, что при эмоциональном возбуждении у кошек в крови увеличивается содержание «симпатинов» — адреналина и норадреналина [25]. Позднее У. С. Эйлер и У. Ландберг установили, что у пилотов и пассажиров самолетов во время полета увеличивается выделение катехоламинов с мочой [27]. Аналогичные данные были получены у нормальных испытуемых, занятых профессиональным хоккеем и любительским боксом до и после матчей, у больных психиатрических клиник до и после консилиумов и пр. [26]. Затем было опубликовано огромное количество исследований, касающихся различных аспектов влияния эмоционального стресса на физиологические, биоэлектрические и биохимические процессы в организме человека и животных и была выявлена связь между реакциями нейроэндокринной и иммунной систем. При разных видах стресса у экспериментальных животных и человека развивается состояние вторичного иммунодефицита, которое затрагивает клеточные и гуморальные звенья иммунитета. При этом в процесс вовлекаются субпо-

пуляции Т- и В-клеток и продукты их жизнедеятельности (цитокины, иммуноглобулины и др.), а Т-клетки утрачивают способность иммунной «памяти» [4]. Исследованиями Ф. З. Меерсона с соавторами показано депрессивное влияние стресса на активность нормальных киллеров [16]. Также установлено, что при экстремальных воздействиях, когда процессы адаптации и компенсации оказываются недостаточно эффективными, высокие концентрации катехоламинов и глюкокортикоидов стимулируют катаболические процессы, вызывают миграцию и деструкцию лимфондных клеток и нарушают деятельность иммунной системы. Таким образом создается основа для развития патологических процессов, связанных с иммунодепрессией. Однако при действии на организм стрессоров умеренной силы и длительности нарушения гомеодинамики, которые вызывают стресс-реакцию, исчезают по мере развития адаптивного ответа [8].

Другой аспект этой проблемы исследовали Л. Я. Каменец с соавторами, которые показали, что у крыс в процессе развития ДМБА-индуцированных опухолей развивается гипертрофия коры надпочечников — расширение клубочковой, пучковой и сетчатой зон, уменьшается масса тимуса и селезенки, снижается секреция гормонов тимуса, атрофируются лимфоузлы, т. е., развивается картина, морфологически идентичная стрессовой реакции [10].

Началом изучения мутагенных эффектов разных видов стрессовых воздействий следует считать исследования Ю. Я. Керкиса с соавторами, которые показали, что хромосомные аберрации в костном мозге мышей возникают при тканевой несовместимости у мышей или при введении интактным крысам экстрактов разных тканей, в том числе мозга облученных животных [11, 12.]. Позднее в острых и длительных экспериментах на животных было показано, что разные виды воздействий — помещение в открытое поле, иммобилизация, гипербарическая оксигенация или гипоксия могут вызывать однотипные нарушения целостности генома — хромосомные аберрации [3, 5, 7, 22].

В 1947 г. М. Е. Лобашовым была опубликована физиологическая (паранекротическая) гипотеза о том, что «мутагенная эффективность повреждающего агента в значительной степени определяется адаптационными механизмами организма как целого и клетки как системы» [1, 47].

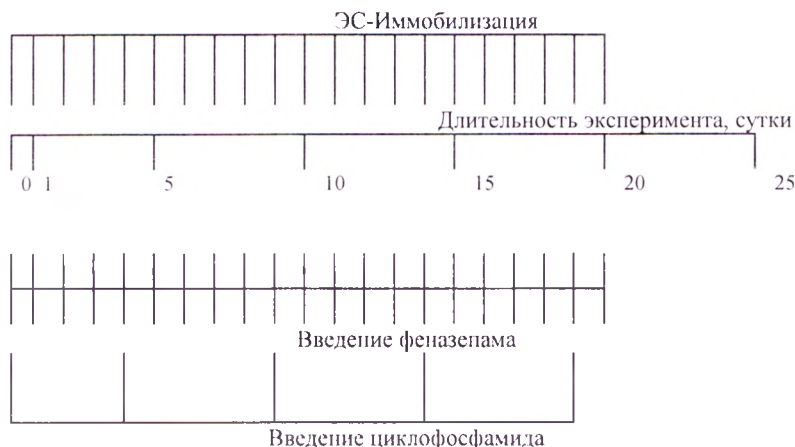
В развитие этих идей М. Е. Лобашова мы предприняли исследование для выявления модифицирующего действия эмоционального стресса на процессы индуцированного мутагенеза. Мы предположили, что существуют общие механизмы развития ответа генома на действие таких разных повреждающих факторов, как физиологический или эмоциональный стресс и мутагенные (канцерогенные) факторы. Если это верно, то наличие выраженной эмоциональной (стрессовой) реакции у человека может быть использовано для прогноза чувствительности генома к действию комплекса средовых генотоксикантов. Это, в свою очередь, предполагает возможность использования выраженности стрессовой реакции в качестве одного из критериев для первичного отбора людей, составляющих группу повышенного генетического риска.

Проверке справедливости этих предположений посвящена настоящая работа.

### **Влияние стресса на уровень индуцированных генетических нарушений у млекопитающих**

В экспериментах использовали самцов мышей гибридов F1 (СВАхС57В1/6) двухмесячного возраста массой  $20 \pm 2$  г разведения питомника Столбовая. В течение эксперимента

животные находились в стандартных условиях вивария и содержались в клетках по 10 особей. Эксперименты проводили по схеме, представленной на ниже.



Всего (в соответствии с видами воздействия) было сформировано 6 экспериментальных групп по 30 особей в каждой: контроль (1); животные, подвергавшиеся действию стресса (2), циклофосфамида (3), феназепама (4); животные, находившиеся под комплексным воздействием стресса и циклофосфамида (5); животные, получавшие феназепам на фоне стресса (6). В течение эксперимента животные, находившиеся под действием стресса или стресса в сочетании с лекарственными препаратами, содержались в отдельном помещении, в изоляции от других групп. Длительность эксперимента — 25 сут. Все воздействия проводились ежедневно или периодически в течение 20 сут.

Стресс (ЭС) вызывали иммобилизацией животных на 4 ч ежедневно в течение 20 дней [6]. Противоопухолевый цитостатик циклофосфамид (ЦФ) в дозе 10 мг/кг вводили животным внутримышечно на старте эксперимента (точка 0), на 4-е сут. и далее каждые 5-е сут., и за 24 ч до забоя. Бензодиазепиновый транквилизатор феназепам (ФЗ) вводили внутрибрюшинно в растворе Tween-80 в стартовой дозе 0,14 мг/кг ежедневно и за 30 мин до начала иммобилизации. Во избежание привыкания доза ФЗ увеличивалась вдвое каждые 7 дней. Все инъекции проводили стерильно в объеме 100–200 мкл. Контрольным животным внутрибрюшинно вводили 200 мкл физиологического раствора. Мышей забивали цервикальной дислокацией через сутки и далее — через каждые 5 сут. после начала эксперимента — в течение 25 дней. При этом для каждого срока забоя из каждой группы случайным образом отбирали по 5 животных.

Для установления наличия и степени развития стрессовой реакции у всех животных проводили оценку морфологических изменений в соответствии с параметрами «триады» Селье: гистологическое исследование желудочно-кишечного тракта и надпочечников; одновременно определяли массу тимуса и массу тела забитых животных.

Генотоксические эффекты оценивали параллельно в тимусе и костном мозге мышей, для чего определяли общий уровень и спектр хромосомных aberrаций (ХА) [15] и скорость пролиферации клеток (митотический индекс — МИ).

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия соответствия  $\chi^2$ .

Эксперимент повторяли дважды.

Результаты изменения массы тела мышей, соотнесенные со значениями этого параметра у контрольных животных, показаны на рис. 1. Общий вид этих кривых свидетельствует об отсутствии какой бы то ни было специфичности в динамике ответа организма как на острое, так и на хроническое действие таких разных по природе факторов, как эмоциональный стресс, противоопухолевый цитостатик и транквилизатор. Анализ динамики изменения массы тимуса (рис. 2) показал, что ЭС вызывает снижение массы тимуса с максимумом отклонения от нормы на 15 сут. Через 5 сут. после снятия стрессовых нагрузок мы наблюдали нормализацию этого параметра. Острое действие ЦФ приводило к очень резкому увеличению массы тимуса, которая при дальнейшем введении этого препара-

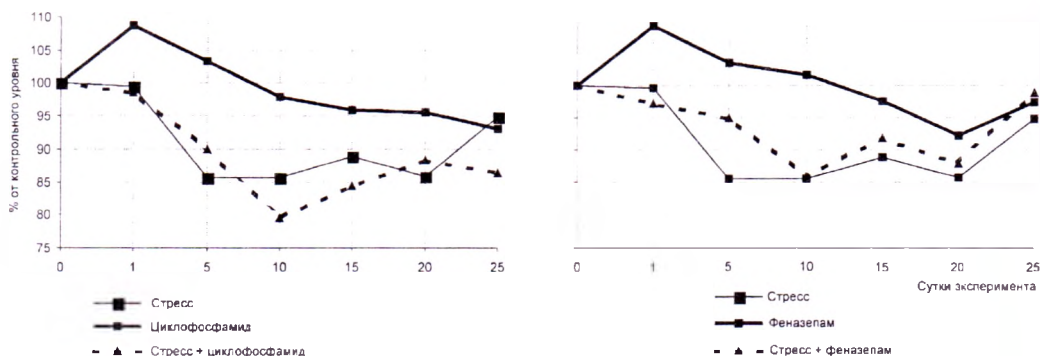


Рис. 1. Изменение массы тела животных  
(значения, приведенные к контрольному уровню)

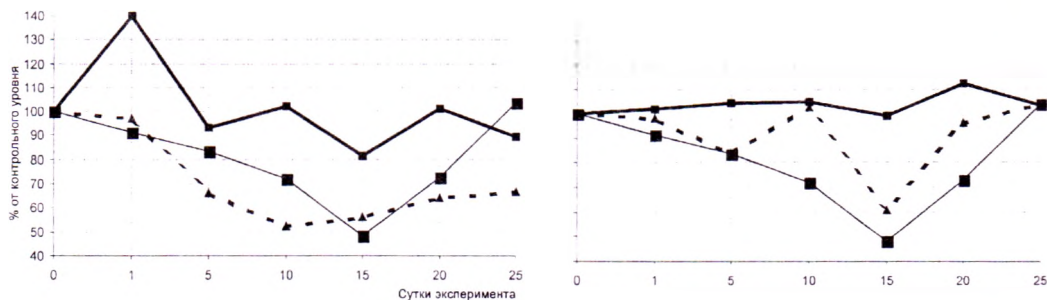


Рис. 2. Изменение массы тимуса мышей:  
Обозначения как на рис. 1

рата волнообразно приближалась к контрольному уровню. Вопреки нашему ожиданию, ни острое, ни хроническое действие ФЗ не привело к значимому изменению массы тимуса, однако при совместном действии ЦФ и ФЗ со стрессом изменения массы тимуса возникали практически в той же динамике, которую мы наблюдали, оценивая изменение массы тела животных.

Гистологическое исследование выявило у иммобилизованных животных и у животных, которым вводили ЦФ, наличие первичных язв на 5-е сут., рубцующихся язв на 10-е и возникновение вторичных язв на 15-е сут. У мышей, вскрытых на 20-е сут., наблюдали в основном атрофические явления в слизистой желудка и кишечника, а на 25-е сут. только склеротические изменения. Введение мышам ФЗ вызывало образование мелких очагов



эрозии в период с 10-х по 20-е сут., а в остальное время — только атрофию слизистой желудка и кишечника. Эффекты совместного действия ЭС и ЦФ сопровождались возникновением язв в желудке и кишечнике в более ранние сроки, чем при индивидуальном действии ЭС и ЦФ, а начало процессов рубцевания — в более поздние. При совместном действии ЭС и ФЗ атрофические явления были менее выражены, чем у животных, подвергнутых действию ЭС, очаги деструкции менее значительны, а деструктивные процессы прекращались к 10-м сут. В надпочечниках разрастание коры — расширение клубочковой, пучковой и сетчатой зон — во всех группах животных происходило волнообразно (обратимо) и синхронно процессам развития изменений в желудочно-кишечном тракте. Таким образом, для всех действующих факторов и их сочетаний динамика процессов образования и нормализации морфологических изменений в тканях желудочно-кишечного тракта и надпочечников была однотипной, изменения носили обратимый характер и были хорошо согласованы с динамикой изменения массы тела животных и массы тимуса. С нашей точки зрения, обратимость зафиксированных изменений свидетельствует о том, что в течение эксперимента у животных состояние срыва работы систем адаптации достигнуто не было. Усиление деструктивных явлений на 10–15 сут. и нормализация в более поздние сроки позволяет предположить, что состояние максимального напряжения систем адаптации отмечалось на 10–15 сут. воздействия. Наиболее важным, с нашей точки зрения, является то, что начало восстановительных процессов отмечалось в то время, когда организм животных еще подвергался воздействию повреждающих факторов, т. е. активность работы систем адаптации волнообразно изменялась вне зависимости от длительности повреждающего воздействия.

Оценка скорости пролиферации клеток (МИ) тимуса и костного мозга мышей (рис. 3) показала, что нормальное гомеостазирование — контрольные животные (рис. 3,2) — сопровождалось постоянными и значительными колебаниями скорости пролиферации тимоцитов, в то время как для клеток костного мозга эти изменения были значительно менее выраженными. На этом фоне действия стресса приводило к практически полной синхронизации скоростей пролиферации клеток костного мозга и тимуса, введение ФЗ не вносило заметных изменений в исходно существующее соотношение скоростей пролиферации клеток тимуса и костного мозга (за исключением резкого ускорения пролиферации в тимусе на 5-е сут. эксперимента), а влияние ЦФ проявлялось, в основном, в подавлении колебаний пролиферативной активности тимоцитов. Те же эффекты наблюдали при совместном действии (ФЗ + ЭС). Действие ЦФ на фоне ЭС приводило к восстановлению нормальной динамики, но при практически двукратном снижении скорости пролиферации тимоцитов в сроки максимального напряжения работы систем адаптации. Таким образом, хотя само действие стресса более сильное влияние оказывало на пролиферацию клеток костного мозга (рис. 3,5), модификация стрессом эффектов ФЗ (4) и ЦФ (6) более заметно проявлялось на тимоцитах. Использование показателей МИ, приведенных к значениям этого параметра у контрольных животных (рис. 4), позволило выявить независимость динамики пролиферации тимуса и костного мозга от вида воздействия.

Таким образом, наши данные (рис. 1–4) показывают, что представления о синхронности протекания процессов адаптации в различных тканях не всегда справедливы. Так, ожидаемое нами максимальное изменение скорости пролиферации клеток на 5–15-е сут. эксперимента — в сроки максимального напряжения работы систем адаптации, в соответствии с морфометрическими и гистологическими данными, — обнаружено не было. Напротив, наиболее серьезные отклонения МИ от контрольного уровня мы наблюдали на 1–5- и 20–25-е сут.

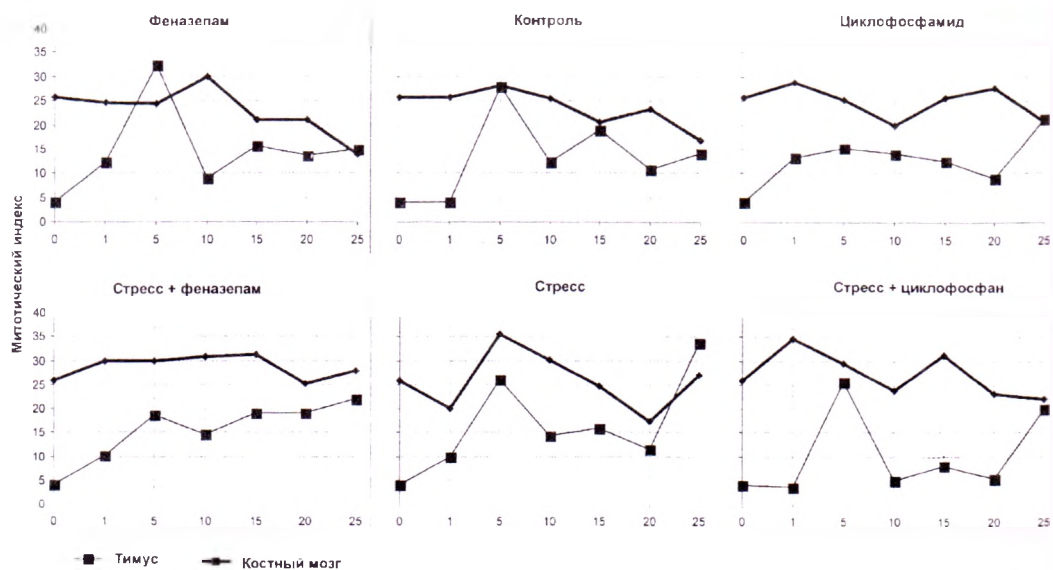


Рис. 3. Изменение митотического индекса клеток костного мозга и тимуса (значения на 1000 клеток)

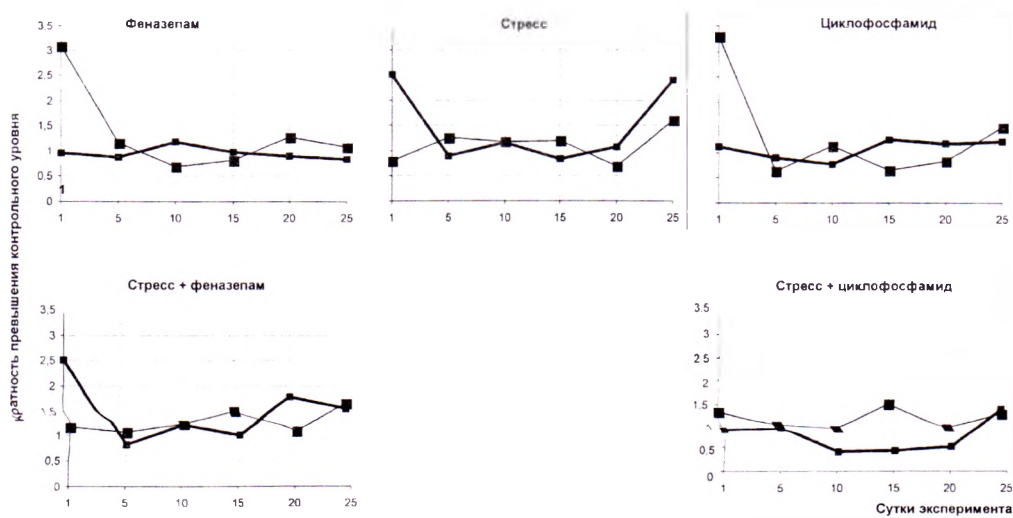


Рис. 4. Изменение митотического индекса клеток костного мозга и тимуса (приведенные значения):  
Обозначения как на рис. 3

Оценка общего уровня хромосомных aberrаций в клетках тимуса и костного мозга (рис. 5) показала, что все изученные воздействия обладали сопоставимой мутагенной активностью для клеток обеих тканей, однако, четкой зависимости эффекта от длительности воздействия выявлено не было, поскольку все изменения имели обратимый характер. С

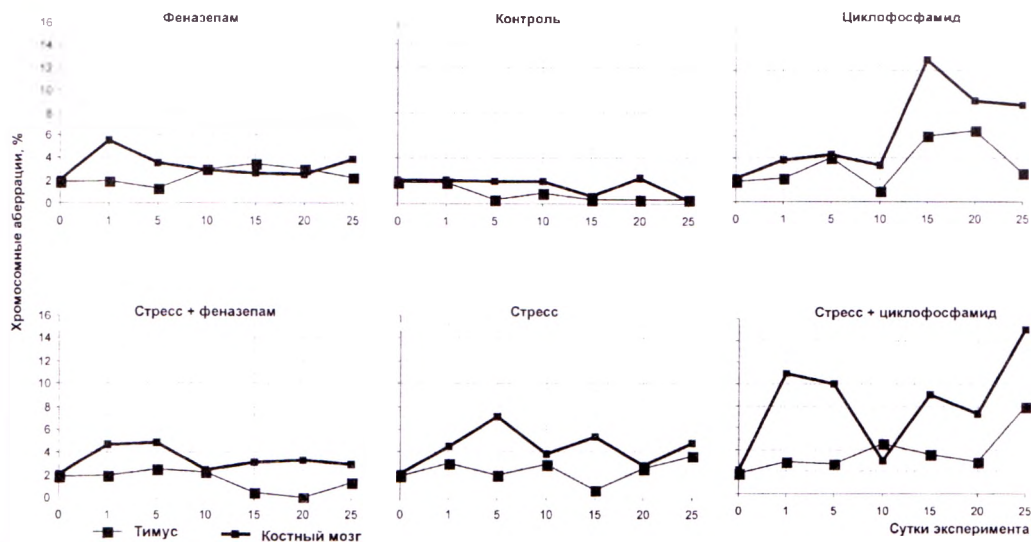


Рис. 5. Индукция хромосомных aberrаций в костном мозге и тимусе мышей (абсолютные значения):  
Обозначения как на рис. 3

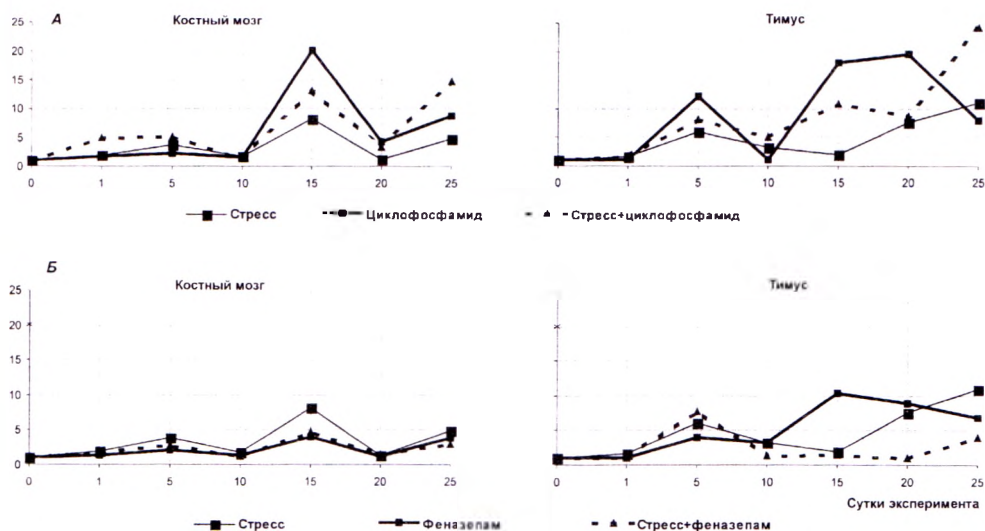


Рис. 6. Индукция хромосомных aberrаций в костном мозге и тимусе мышей (кратность превышения над контрольным уровнем):

А — модификация эффектов циклофосфамида и Б — феназепама



нашей точки зрения. Особенно важным является тот факт, что динамика образования и элиминации аберрантных клеток для всех видов воздействия и для всех вариантов модификации была практически одинаковой (см. рис. 6). Следует отметить, что, вопреки нашему ожиданию, стресс не только значительно усиливал мутагенное действие ЦФ (для тимоцитов — на 25-е сут., а для клеток костного мозга — на 1–5- и 25-е сут. эксперимента), но и приводил к значимому снижению количества аберрантных клеток и общего числа хромосомных aberrаций, индуцированных ЦФ (для тимоцитов на 5-, 15- и 20-е сут., а для клеток костного мозга на 15-е сут. эксперимента). В то же время при действии ЭС на фоне ФЗ мы наблюдали только синергическое снижение уровня хромосомных aberrаций по сравнению с аддитивным. Таким образом, стресс в наших экспериментах проявлял свойства не только мутагена, но антимутагена.

Анализ спектров хромосомных aberrаций, возникавших в клетках костного мозга и тимуса мышей, показал, что виды структурных повреждений хромосом в этих тканях были различными. Абберрантные клетки в тимусе имели нарушения только в виде одиночных фрагментов хромосом, в то время как в костном мозге наблюдали образование одиночных и множественных фрагментов. Следует отметить, что единичные клетки с множественными фрагментами хромосом наблюдались в разные сроки во всех экспериментальных сериях, однако закономерные изменения этого показателя были отмечены у животных, подвергавшихся воздействию только ЦФ или при его введении на фоне ЭС (рис. 7). При этом динамика возникновения клеток с множественными фрагментами хромосом была достаточно хорошо согласована с изменением общего уровня хромосомных aberrаций.

Приведенные результаты прежде всего позволяют сделать вывод об идентичности во времени развития и характере проявления как морфологических, так и генетических последствий действия таких различных по своей природе факторов, как эмоциональный стресс и химические мутагены. То есть острый и длительный стресс у животных проявлял свойства мутагенного фактора, сходного по силе воздействия и динамике развития генетических нарушений с таким известным и сильным мутагеном, цитостатическим агентом, как циклофосфамид.

Весьма интересным нам представляется тот факт, что хроническое действие любого из изученных генотоксикантов или их сочетания не приводило только к накоплению повреждений генома в соответствии с длительностью воздействия — все изменения носили обратимый характер. Вероятно, что кроме выявленных нами экстремальных точек на кривых, характеризующих динамику развития генетических эффектов ЭС, ЦФ и ФЗ или их совместного действия, существуют еще и промежуточные точки перегиба. Однако результаты наших экспериментов демонстрируют факт существования в организме детерминированных во времени (при воздействии, не вызывающем срыва адаптации) состояний различной чувствительности к повреждающим агентам практически любой природы. Мы полагаем, что наиболее вероятной причиной этого явления могут быть адаптационные процессы, запускаемые в организме повторным (многократным) действием самого дестабилизирующего фактора. Так, оценка скорости пролиферации (см. рис. 4) и уровня хромосомных aberrаций (см. рис. 6) позволила нам выявить общую закономерность, суть которой сводится к тому, что при воздействиях, не приводящих к срыву работы систем адаптации, в организме возникают состояния, которые характеризуются различной чувствительностью к повреждающему действию факторов любой природы.

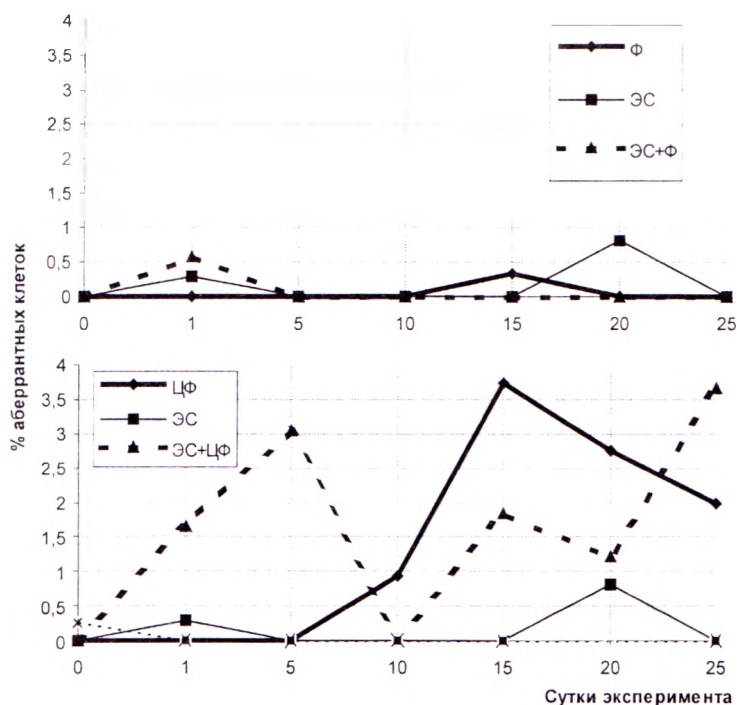


Рис. 7. Частота клеток с множественными абберациями в клетках костного мозга мышей при модификации эффектов циклофосамида и феназепама эмоциональным стрессом

Как показано классическими работами Селье, при однократных воздействиях резистентность организма меняется волнообразно (см. с. 2). По нашему мнению, это означает, что при повторных воздействиях каждое следующее приходится на иное состояние всего организма, измененное предыдущим стимулом. При этом должна происходить «интерференция» волн адаптации, вызванных каждым последующим воздействием на фоне предыдущего. В результате в организме могут возникать резонансные усиления и ослабления резистентности (либо выраженности ответа) на уровне клетки, ткани и целого организма. При введении мутагена, действии стресса или при их сочетании, происходящем в период активации работы систем адаптации (СР), результирующие эффекты должны быть значительно менее выражены, чем при аналогичном по интенсивности, но происходящем на спаде адаптивного ответа воздействии (РТ) или при напряжении либо срыве работы систем адаптации (СИ). Наши эксперименты, в частности, показали, что изменения адаптивного потенциала генома и целого организма при повторном или многократном воздействии разных факторов могут происходить достаточно часто и не регулярно. При осмыслении этого заключения важно отметить, что адаптивный ответ может быть индуцирован как известным, или поддающимся учету повреждающим фактором, так и другими (дополнительными) воздействиями — травмой, эмоциональными переживаниями и др., что, тем не менее, не позволяет говорить о его специфичности. То есть кроме непосредственной мишени, в

принципе существующей для каждого повреждающего агента, стадия адаптивного ответа организма, на которой проводится воздействие, будет определять его чувствительность к этому воздействию.

Итак, результаты наших экспериментов показали, что эмоциональный (физиологический) стресс у млекопитающих не отличается по выраженности генотоксического воздействия и динамике развития ответа от действия противоопухолевого препарата сильного мутагена циклофосфамида. Кроме того, оказалось, что индуктор генетических нарушений циклофосфамид вызывал такие же морфологические изменения в тканях желудка, кишечника и надпочечников, которые были характерны для действия стресса. В наших экспериментах бензодиазепиновый транквилизатор феназепам обладал генотоксической активностью, сопоставимой по динамике ответа с действием низких доз циклофосфамида или иммобилизационного стресса и вызывал менее выраженные, но сходные по динамике морфологические изменения в тканях желудка, кишечника и надпочечников. Наиболее важным, с нашей точки зрения, является тот факт, что действие феназепама и циклофосфамида на фоне стресса в зависимости от длительности воздействия приводило как к увеличению, так и снижению результирующих мутагенных эффектов. Таким образом, мы показали, что эмоциональный стресс является модификатором ответа генома на действие химических генотоксикантов разных классов.

### **Использование оценки стрессовой реакции у человека для выявления групп повышенного генетического риска**

При попытке экстраполировать результаты экспериментальных исследований на человека мы столкнулись с тем, что экспериментально определить главный в этих рассуждениях показатель — стадию адаптивного ответа организма на какое-либо одно воздействие, равно как и на их комплекс, весьма сложно. Оценка уровня хромосомных aberrаций даже в комплексе с определением активности репаративного синтеза ДНК, по нашему мнению, позволяют лишь констатировать факт наличия повреждений в данный момент, а получить информацию, имеющую прогностическую ценность, можно только на основании многократных повторных индивидуальных обследований [20]. Определение аддуктов мутагенных метаболитов в ДНК [28], с нашей точки зрения, также мало информативно, поскольку может быть использовано, только если известен состав действующего комплекса химических мутагенов. Кроме того, этот метод не может быть использован для прогноза развития эффекта, а значит, и в профилактических целях. В настоящее время разрабатываются комплексные подходы к оценке адаптивного потенциала организма, основанные на одновременном определении 20–60 различных биохимических, иммунологических и других показателей и их обобщении в виде 3–5-балльной шкалы [1]. Прогностическая ценность этого подхода несомненна, однако проведение конкретных оценок весьма трудоемко и дорого.

В экспериментах на мышах, описанных выше, мы показали, что стрессовая реакция развивается в организме независимо от природы действующего фактора — физиологического (эмоционального) или химического. Это означает, что напряжение или срыв работы систем адаптации, происходящий на генетическом уровне, у человека может проявляться в виде психологической реакции — эмоционального стресса (повышенной или аномально пониженной тревожности, психологической депрессии или фрустрации). Поэтому мы предположили, что определение глубины и длительности стрессовой реакции у человека может быть использовано для оценки состояния адаптационных систем организма и, тем самым, для прогноза генетических эффектов действия факторов различной природы, в том

числе комплекса мутагенных и канцерогенных воздействий окружающей среды. Мы думаем, что такой подход также корректен для формирования групп повышенного генетического риска.

Обследование людей проводили в два этапа. Задача первого состояла в выявлении возможной связи между глубиной и длительностью эмоционального стресса у человека и уровнем генетических нарушений. На втором этапе была сделана попытка оценить возможность использования оценки эмоционального стресса для выявления контингента, наиболее подверженного действию генотоксикантов окружающей среды.

Работу проводили в г. Дятьково (Брянская обл., регион, не затронутый радиоактивным следом после аварии на Чернобыльской атомной станции), Ярославле и Москве. Глубину и длительность эмоционального стресса определяли анкетированием с использованием стандартных психологических тестов [2, 33].

На первом этапе работы параллельно с оценкой генетических изменений в клетках периферической крови рабочих г. Дятьково и Ярославля проводили психологическое тестирование с использованием двух шкал — шкалы Тейлора, предназначенной для определения уровня тревожности личности и степени переутомления по шкале Akkles [2]. Результаты обследования рабочих г. Дятьково (26 человек) (рис. 8) показали, что у людей, находящихся в состоянии повышенной тревожности уровень, хромосомных aberrаций и активность репаративных процессов в клетках периферической крови были достоверно выше, чем у живущих в состоянии психологического комфорта.

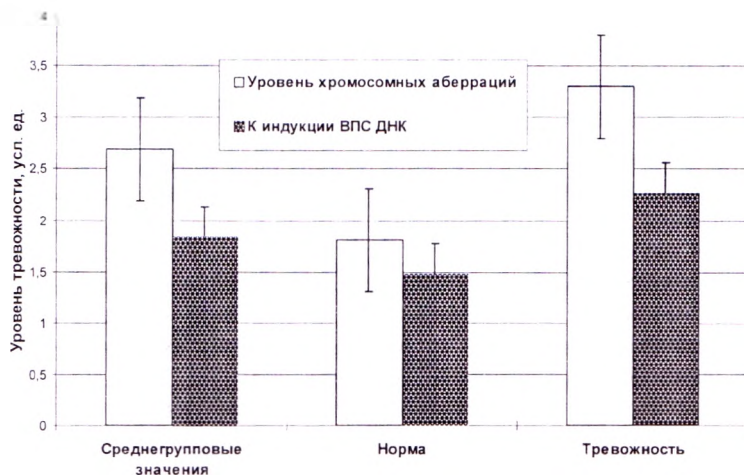


Рис. 8. Связь между генетическими параметрами и уровнем тревожности у рабочих г. Дятьково (Брянская обл.)

В Ярославле было проведено двукратное комплексное генетико-психологическое обследование людей параллельно с оценкой суммарной мутагенности и суммарной токсичности проб воздуха на предприятиях и в месте проживания рабочих. Психологический статус обследуемых оценивали по трем шкалам, определяющим психологическую депрессию [2], ситуативную тревожность и степень переутомления. Одновременно оценивали уровень хромосомных aberrаций [29] и активность репаративного синтеза ДНК в клетках периферической крови [30].



В результате этого исследования было обнаружено, что рабочие ярославского нефтеперерабатывающего завода, жившие в непосредственной близости к заводу, чаще находились в состоянии острого или хронического эмоционального стресса, чем рабочие машиностроительного завода, проживавшие в более чистом районе города [9, 19]. При проведении повторного обследования тех же рабочих через месяц мы установили, что люди, которые на момент первого обследования находились в состоянии психологического дискомфорта — психологической депрессии и/или повышенной тревожности (либо патологического спокойствия), были более чувствительны к действию дополнительной генотоксической нагрузки, в отличие от тех, которые находились в состоянии психологического комфорта. То есть пребывание в состоянии психологического дискомфорта, которое соответствует реакции тревоги, напряжению или срыву адаптации организма, связано с уровнем генетических нарушений у человека сложным образом: по нашим данным [9] в 85–100 % случаев (для разных групп обследованных) состояние психологического дискомфорта указывает на повышенную чувствительность генома к действию генотоксикантов окружающей среды. Таким образом, эмоциональный стресс не всегда является показателем высокого уровня генетических повреждений у человека, но имеет прогностическую ценность — позволяет с достаточно высокой надежностью выявить контингент, обладающий повышенной чувствительностью к генотоксическим воздействиям.

Заключительным этапом работы было психологическое обследование жителей Москвы, проживающих в различной удаленности от магистралей с разной насыщенностью автотранспортом, проведенное параллельно с оценкой суммарной мутагенности [13] и суммарной токсичности проб воздуха [18], отобранных в местах обследования, и определением шумовой нагрузки [23] в четырех районах Центрального округа Москвы. Каждый из районов, выбранных для обследования, условно подразделили на три участка, расположенных в соответствии с удаленностью от основных автомагистралей — участки (1) — в непосредственной близости к основной дороге, участки (2) и (3) — в глубине кварталов. По данным московской ГорСЭС наиболее загрязненным выбросами автотранспорта является район Тульской ул., а наиболее чистым — район Спиридоновской ул.

Психологическое тестирование взрослых жителей каждого участка проводили на дому с использованием двух стандартных анкет (опросников), апробированных нами ранее [9, 19], каждый из которых давал балльную оценку. Группы опрошенных были сформированы случайным образом и их численность варьировала от 44 до 11 человек на каждый участок. Всего было опрошено 272 человека. Статистическую обработку результатов тестирования проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Оценка уровня шума показала отсутствие значимых различий между участками, находящимися в непосредственной близости к автомагистралям (1.1, 2.1, 3.1, 4.1 и т. д.); в то время как между участками, находящимися в одном районе (1.1, 1.2, 1.3, и т. д.), наблюдалась разница в уровне шума до 24 %. Следует отметить, что зафиксированные уровни шума на всех участках не превышали соответствующих нормативных значений [23].

Результаты оценки суммарной токсичности и суммарной мутагенности образцов проб воздуха (табл. 1) показали, что максимальной мутагенной активностью обладали суммарные водно-органические экстракты проб, отобранных в непосредственной близости к одним из самых загруженных транспортом магистралей столицы — Варшавскому шоссе (Тульская ул., участок 1) и Комсомольскому проспекту (Фрунзенская ул., участок 3). Важно, что суммарная токсичность водных экстрактов проб, отобранных на этих участках, также оказалась максимальной. Более того, результаты, полученные в люминесцентном бактериальном тесте, позволили ранжировать все обследованные территории по степени общетоксической на-



грузки. Для участков (1), расположенных в непосредственной близости к автомагистралям этот ряд был следующим: Тульская ул., Фрунзенская ул., Сухаревская и Спиридоновская ул.

Из результатов психологического тестирования по каждой из использованных анкет (рис. 9) видно, что оценка психологической депрессии оказалась более информативной при использовании показателя «среднегрупповая сумма баллов» (рис. 9, 1А): ранжирование участков (1) при ее использовании полностью воспроизводит градиент, полученный по показателям суммарной токсичности проб воздуха. Показатель «доля лиц в состоянии психологического дискомфорта» (рис. 9, 1Б) достаточно корректно воспроизводит картину суммарной токсичности, но по отношению к каждому району в отдельности (градиент участков (1), (2), (3)). Тем же способом обработанные результаты оценки тревожности (рис. 9, 2А, Б) дают картину, в меньшей степени сопоставимую с результатами оценки проб воздуха.

Интересные результаты дала оценка доли жителей каждого участка, имевших отклонения от нормальных значений по одному (любому) и обоим использованным психологическим тестам. Оказалось, что в наиболее грязных, по данным оценки суммарной токсичности, районах Тульской и Фрунзенской улиц, мы выявили градиент изменений этого показателя в соответствии с удаленностью от основных автомагистралей.

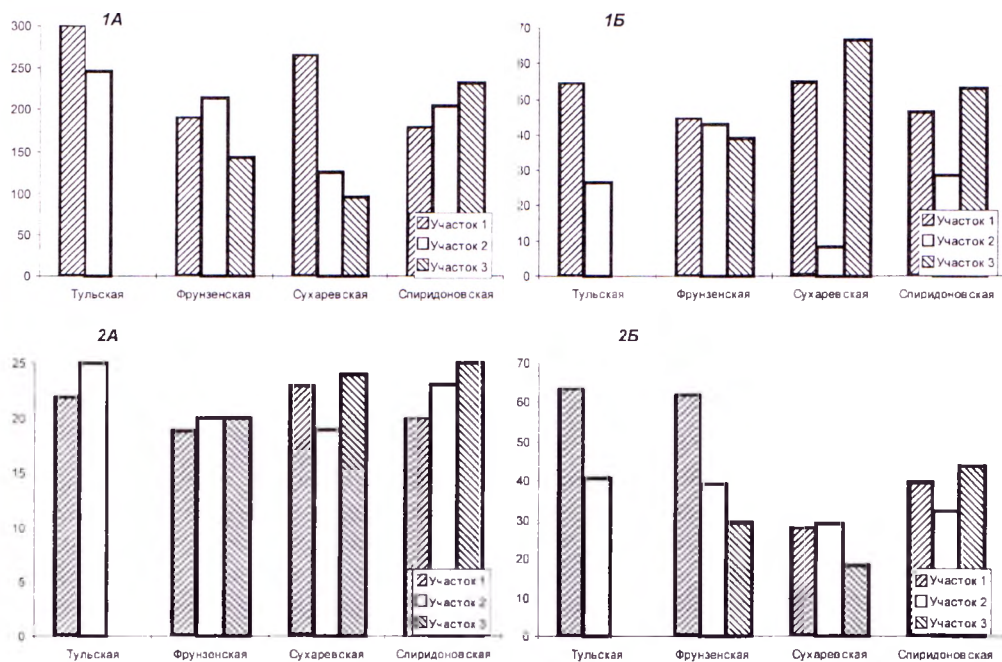


Рис. 9. Результаты оценки психологического статуса жителей 4 районов г. Москвы — групповые значения:

1 — оценка психологической депрессии, 2 — тревожности.  
А — сумма баллов — среднегрупповые значения, Б — отклонения от нормы, % случаев

Таким образом, на основании полученных данных (рис. 9 и табл. 1), можно сделать вывод о том, что стрессовая реакция у жителей обследованных районов была в значительной мере связана с уровнем загрязненности воздуха. Результаты расчетов коэффициентов

Таблица 1

Суммарная токсичность и мутагенность проб воздуха

Место взятия пробы	Суммарная токсичность водных экстрактов (К тушения лю- минесценции*)	Суммарная мутагенность (тест Эймса)**					
		водный экстракт		орган. экстракт		водный+орган. экстракт	
		К превышения	Оценка эффекта	К превышения	Оценка эффекта	К превышения	Оценка эффекта
Фрунзенская наб.							
1	1,0	1,37	—	2,52	+	2,19	+
2	5,4	1,14	—	1,44	—	1,32	—
3	27,1	1,14	—	5,01	++	3,05	++
Спиридоновская ул.							
1	9,1	1,33	—	1,68	—	1,45	—
2	19,5	1,59	—	1,14	—	1,36	—
3	10,1	1,26	—	1,54	—	1,08	—
Сухаревская ул.							
1	13,5	1,63	—	2,08	+	1,50	—
2	5,6	1,86	+	1,34	—	1,46	—
3	16,1	0,98	—	1,00	—	1,23	—
Тульская ул.							
1	42,4	0,9	—	3,86	++	4,40	++
2	12,7	1,19	—	1,01	—	1,19	—
3		1,12	—	1,27	—	1,23	—

\* Суммарная токсичность образцов пропорциональна коэффициенту тушения люминесценции.

\*\* Приведены только максимальные значения коэффициентов превышения над контрольным уровнем, полученные в результате тестирования с использованием 2 штаммов в вариантах с и без метаболической активации.

Обозначения: (++) — средний, (+) — слабый мутагенный эффект, (—) — мутагенная активность не обнаружена.

корреляции между данными по оценке суммарной токсичности проб воздуха и долей жителей, находящихся в состоянии психологического комфорта (шкала — оценка психологической депрессии) (табл. 2) показали, что во всех районах, кроме Фрунзенской ул. (расположенной между двумя магистралями с интенсивным движением транспорта — Комсомольским проспектом, участок 3, и Фрунзенской набережной, участок 1, доля жителей, находящихся в состоянии психологического комфорта имела высокий уровень обратной корреляции с суммарной токсичностью воздушных загрязнений.

Таким образом, мы показали, что люди, проживающие в непосредственной близости к автомагистралям, в среднем чаще находятся в состоянии эмоционального стресса, чем жители более удаленных кварталов. Это означает, что среди людей, в высокой степени подверженных действию выбросов автомагистралей, должны чаще встречаться люди в состоянии напряжения и даже срыва работы систем адаптации. Действительно, данные (рис. 9, 1А) показывают, что у жителей наиболее загрязненного из всех обследованных участков (1) Тульской ул. среднегрупповая оценка (в баллах) уровня психологической депрессии превышает верхнюю границу нормы.

Таблица 2

Корреляция между результатами психологического тестирования жителей и оценкой суммарной токсичности образцов проб воздуха

	Участок			Коэффициент корреляции
	1	2	3	
Доля жителей в состоянии психологического комфорта % тушения люминесценции	26,67	54,55	Тульская ул. Нет данных	-1,00
	42,4	12,7	»	
Доля жителей в состоянии психологического комфорта % тушения люминесценции	55,17	57,14	Фрунзенская ул. 60,98	0,98
	1,0	5,4	27,1	
Доля жителей в состоянии психологического комфорта % тушения люминесценции	45,16	91,67	Сухаревская ул. 36,36	-0,99
	13,5	5,6	16,1	
Доля жителей в состоянии психологического комфорта % тушения люминесценции	53,33	71,43	Спиридоновская ул. 46,88	-0,94
	9,1	19,5	10,1	

В соответствии с этим результаты, приведенные в этом разделе, можно трактовать следующим образом: к категории лиц, имеющих наибольший риск возникновения генетических нарушений, в первую очередь относятся жители городских территорий, расположенных в непосредственной близости к насыщенным транспортом автомагистралям. Соответственно они же должны входить в группу повышенного генетического риска.

Эти выводы хорошо согласуются с данными, полученными в Италии [24], где у жителей районов, расположенных в местах постоянного образования автомобильных пробок, обнаружен повышенный уровень хромосомных aberrаций. Завершить ход этих рассуждений уместно, используя данные, полученные в Финляндии: у большинства обследованных с высоким уровнем хромосомных aberrаций через 20 лет были обнаружены злокачественные опухоли [32].

С нашей точки зрения, для грамотного прогнозирования ответа генетического аппарата человека на изменения генотоксической нагрузки окружающей среды при проведении массовых или выборочных обследований населения следует использовать двухэтапную схему. На первом этапе, перед началом собственно генетического обследования, для каждой предполагаемой группы сравнения следует провести достаточно широкомасштабное психологическое тестирование людей с целью формирования двух значительно меньших по численности подгрупп — людей, находящихся в нормальном психологическом статусе и в состоянии психологического дискомфорта. На втором этапе собственно генетические исследования следует проводить в каждой из сформированных подгрупп. Анализ результатов генетических тестов, проведенный с использованием такой схемы, позволит оценить нижние (для людей с нормальным психологическим статусом) и верхние (для живущих в состоянии эмоционального стресса) границы изменения изучаемых параметров в обследуемой популяции и выделить группы повышенного генетического риска.

Отсутствие в настоящее время такого дифференцированного подхода часто приводит к искажению прогноза влияния изменений состояния окружающей среды на генетическое здоровье населения. Мы также полагаем, что блок психологических тестов, использованный в настоящем исследовании, достаточен для проведения генетико-токсикологического мониторинга разных групп взрослого населения<sup>\*</sup>.

## УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авалиани С. Л., Шиманова Т. Е., Иродова Е. В., Андрианова М. М. Оценка реальной опасности химических веществ на основе анализа зависимости концентрации (доза)–статус организма // Гигиена и санитария. 1997. Вып. 2. С. 58–60.
2. Ахмеджанов Э. Р. Психологические тесты. М., 1997.
3. Беляев Д. К. Некоторые генетико-эволюционные проблемы стресса и стрессированности // Вестн. АМН СССР. 1979. № 7. С. 9–14.
4. Гургенидзе Г. В., Хеладзе З. С. Механизмы перестройки иммунного статуса при стрессе // Стресс и иммунитет. Ленинград–Ростов-на-Дону. 1989. С. 13–14.
5. Гуськов Е. П. Генетические аспекты гипербарической оксигенации: Дис. д-ра биол. наук. Ростов-на-Дону. 1989. 303 с.
6. Даниленко Е. Д., Масычева В. И., Сергеева Г. И. Использование модели имобилизационного стресса для оценки антистрессорной активности аналогов вазопрессина // Ланнималогия. 1993. Т. 1. С. 51–52.
7. Дюжина Н. А., Быковская Н. В., Вайдо А. И., Лопатина Н. Г., Шварцман П. Я. Мутагенный эффект острой невротизации в клетках костного мозга крыс, селективированных по порогу возбудимости нервной системы // Генетика. 1996. Т. 32, № 6. С. 851–854.
8. Еремича С. А., Овсянников В. Г., Бойченко А. Е. Стресс и экстремальные состояния // Стресс и иммунитет. Ленинград–Ростов-на-Дону. 1989. С. 66–67.
9. Ингель Ф. И., Прихожан А. М., Цуцман Т. Е., Ревазова Ю. А. Оценка глубины стресса и ее использование при проведении генетико-токсикологических исследований на людях // Вестн. РАМН. 1997. № 7. С. 24–28.
10. Каменец Л. Я., Селезнева Т. Н., Гриневич Ю. А. Морфофункциональная взаимосвязь коры надпочечников, тимуса и других лимфоидных органов крыс в динамике индуцированного киацерогенеза молочных желез // Стресс и иммунитет. Ленинград–Ростов-на-Дону. 1989. С. 70–71.
11. Керкес Ю. Я., Яснова Л. Н., Урженко А. В. Мутагенное действие экстрактов из различных органов облученных животных // Генетика. 1965. № 6. С. 110–114.
12. Керкес Ю. Я., Скорова С. В. Мутагенный эффект иммунологического стресса при тканевой несовместимости у мышей // Генетика. 1971. № 11. С. 70–74.
13. Кривцова Е. К., Ингель Ф. И., Брацлавский В. А., Глотова Т. П., Ревазова Ю. А. Изучение потенциальной мутагенной активности образцов проб воды, воздуха и дождевых отложений в районе г. Сосновый Бор // Гигиена и санитария. 1994. Вып. 7. С. 33–35.
14. Лобашов М. Е. Физиологическая (паранекротическая) гипотеза мутационного процесса // Вестн. Ленингр. ун-та. 1947. № 8. С. 10–29.
15. Малащенко А. М., Суркова Н. И., Семенов Х. Х. Определение мутагенной активности химических соединений (генетический скрининг) на лабораторных мышах. Методические указания. М., 1987.
16. Меерсон Ф. З., Пищеникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., 1988. 252 с.

---

<sup>\*</sup> Экспериментальная часть работы была выполнена коллективом сотрудников лаборатории мутагенеза Института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина РАМН, которые работали под руководством профессора Ю. А. Ревазовой.

Автор искренне благодарит д-ра психол. наук А. М. Прихожан за помощь в выборе психологических тестов, консультации по их проведению и анализу полученных результатов, канд. биол. наук И. Е. Дробинскую, канд. биол. наук Л. В. Хрипач, канд. биол. наук В. В. Юрченко, Е. К. Кривцову, Т. Е. Цуцман, Н. М. Геворкян, Н. А. Юрцеву и Г. Н. Федину за помощь в проведении и анализе результатов экспериментов на животных, отборе и анализе проб воздуха и проведении психологического тестирования жителей г. Москвы, канд. биол. наук Э. Р. Переверзеву за проведение морфологического анализа тканей животных и Л. М. Прихожану за участие в планировании работы и обсуждении ее результатов.

Особенную признательность автор выражает профессору А. П. Ильницкому за глубокий анализ работы и полезные замечания.

17. Мясцев В. И. Предисловие к русскому изданию трудов международного симпозиума «Эмоциональный стресс», Стокгольм, 3–5 февраля 1965; Ленинград, 1970. С. 7–19.
18. Определение токсичности воды и водных экстрактов из объектов окружающей среды по интенсивности биолюминесценции бактерий (методические рекомендации). М., 1996.
19. Ревазова Ю. А., Инсель Ф. И., Цуцман Т. Е., Хрипач Л. В., Кривонова Е. К., Юрченко В. В., Геворкян Н. М. Методология проведения комплексных генетико-токсикологических исследований // Вестн. РАМН 1997. № 7. С. 18–24.
20. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику. Минск, 1978. 447 с.
21. Селье Г. На уровне целого организма. М., 1972. 121 с.
22. Середенин С. В., Дурнев А. Д., Ведерников А. А. Влияние эмоционального стресса на частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 1980. № 7. С. 91–92.
23. Шук А. Психологическая акустика в борьбе с шумом / Под ред. Н. И. Иванова. СПб., 1995. 224 с.
24. Bronzetti G., Ciacchini G., Paoli M., Giacconi V., Cini M., Moricetti E. Genetic effects and chemical analysis of Pisa airborne particulate matter // European Environmental Mutagen Society 25-th Annual Meeting June 18–23, 1995. Noordwijkerhout, The Netherlands. P. 216.
25. Cannon W. B., Rapport D. Studies on the conditions of activity in endocrine glands // Amer. J. Physiol. 1921. Vol. 58. P. 338–352.
26. Elmajian F. Excretion and metabolism of epinephrine and norepinephrine in various emotional stress // Proceedings of 5-th Panamerican Congress of Endocrinology. 1963. P. 341–369.
27. Euler U. S., Lundberg U. Effect of flying on the epinephrine and norepinephrine in air force personnel // J. Appl. Physiol. 1954. Vol. 6. P. 551–555.
28. Holian A. Biomarkers in environmental application a overview and summary recommendations // Environmental and health perspectives. 1996. Vol. 104, Suppl. 5. P. 851–857.
29. Kirkland D. J., Dresch J. H., Marshall R. R., Baumeister M., Gerloff C., Gocke E. Normal chromosomal aberration frequencies in peripheral lymphocytes of healthy human volunteers exposed to a maximum daily dose of paracetamol in a double blind trial // Mutation Res. 1992. Vol. 279. P. 181–194.
30. Knudsen L., Ryder L. P., Wasserman K. Induction of DNA repair synthesis in human monocytes/B-lymphocytes compared with T-lymphocytes after exposure to AAF and DMS // Carcinogenesis. 1992. № 7. P. 1285–1287.
31. Selye H. Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxication // British J. Experimental Pathol. 1936. Vol. 17. P. 234–248.
32. Sorsa M., Knudsen L. Status and validation of genetic methods for human biomonitoring of genotoxic exposures // Pharmacol. Toxicol. 1993. Suppl. 1. P. 15–17.
33. Taylor J. A. A personality Scale of Manifest Anxiety // J. Abnormal and Social Psychol. 1953. Vol. X LVIII. P. 285–290.